动 物 学 研 究 14 (3): 271—276 ISSN 0254-5853
Zoological Research CN 53-1040 / Q

斑腿蝗科10属NOR定位及其细胞分类学意义

马恩波 郭亚平 郑哲民
(山西大学生物系 太原 030006) (陕西师范大学动物研究所 西安 710062)

摘要 本文以银染技术对我国斑腿蝗科10个属的代表种类进行了核仁组织者区域(NOR)定位研究。结果表明：NOR位置在同属内不同种间显示出种间相似性，而不同属间则有差别，揭示了属内同源性。

关键词：斑腿蝗科，细胞分类学，核仁组织者，Ag带

在直翅目蝗总科昆虫中，银染技术多用于初级精母细胞减数分裂前期染色体的观察分析，以确定核仁组织者区域（NOR）的定位分布。由于此时NOR的活性较高，定位点较易观察和确定，这与哺乳类和植物中（Goodpasture等，1975; Lacadena等，1984）有所不同。蝗总科NOR主要分为两类，一为原始NOR（Primary NOR），系指种内所有个体细胞分裂前期阶段均具活性。第2类为次生NOR（Secondary NOR），仅偶然具有活性，通常产生小的核仁。在细胞分类学研究中常采用第一类NOR。

NOR在种内通常显示染色体定位及活性方面的恒定性，在种、属间则有一定差异存在，这样使得NOR成为较高级阶元中分析种系发生路线的一项有用指标。例如，对于 *Warramba virgo* 的NOR研究表明，可以区分出两个不同的进化支系（White等，1982），由于种内NOR定位的恒定性，在 *Steropleurus martorelli* 4个族内确定染色体重排等机制，NOR就具有十分重要的意义（Fernandez-Piqueras等，1983）。

本工作研究了斑腿蝗科内10个属核仁组织者定位，从属内种间及科内属间水平进行比较和分析，并探讨该方法在细胞分类学研究中的意义。

材 料 和 方 法

实验用标本种类、采集时间、地点及所研究个体数见表1。将野外采来的雄性蝗虫活体解剖，取出精巢并除去表面的结缔组织和脂肪，入低渗液（0.075 M KCl溶液）5—10 min后，移置固定液（3∶1甲醇∶冰醋酸）中8—12 h后，换至70％酒精液内，入4℃冰箱保存。

染色体制片采用压片法，用镊子夹取2—3条精小管，置于洁净载玻片上，取其末

本文1992年6月29日收到，同年11月25日修回。

端膨大部分，滴加1滴60%冰醋酸，加盖片、覆滤纸施加压力使细胞内染色体分散。然后，液氮冰冻快速揭片，将玻片置室温下无尘处自然干燥2—3 d后，进行Ag带处理。

银染程序（Ag-NOR）参照施立明等介绍的方法，配制两种溶液：A. 2 %白明胶水溶液10 ml，加入0.1 ml甲酸；B. 50%硝酸银水溶液。在染色体制片上滴加A液两滴，B液4滴，加盖片，并将其置于一铺以湿滤纸的培养皿中，置65℃恒温箱内2—5 min取出水洗，晾干镜检。染色合适的玻片上可见染色体为黄色，核仁呈棕色或黑色附着于染色体的核仁组织者区域。玻片自然干燥后，中性树胶封片。

封固后的玻片标本在显微镜下观察，选取减数分裂前期Ⅰ粗线期或双线期分裂相，通过大量观察分析，确定核仁组织者所附着的染色体及其具体部位，显微摄影。

结 果

本工作对斑腿蝗科10属种类进行Ag-NOR分带处理，结果表明NOR活性仅见于减数分裂前期阶段，即初级精母细胞第1次分裂前期，其中，尤以粗线期和双线期为最适观察期。此时，染色体浓缩适度，各染色体大小容易辨识，对于确定各个二价体的大小顺序较为有利。此外，核仁往往附着于染色体上核仁组织者区域，经过银染程序处理后，核仁呈深棕至黑色，而染色体为浅黄色或黄色，形成明显反差，在黑白照片中，亦可根据着色性质进行分辨。核仁组织者定位分布结果列于表2中。

本工作分析的10属斑腿蝗科种类分隶3个亚科（见表1）亚科内属与属间在常规形态分类学方面显示出较密切的亲缘关系。下面分述实验结果：

一、稻蝗亚科 稻蝗属：选取了5种稻蝗进行该项分析（见表1、2；图版A-E），在所观察的各种稻蝗中，NOR均定位在第8和第10染色体上。其中，第8号染色体在双线期时呈现近端交叉形式，而与核仁相连的核仁组织者区域位于近着丝粒处。此外，在上述各种稻蝗中可以观察到第10号染色体具有一居间定位的NOR，在减数分裂双线期，该染色体呈末端交叉，而核仁附着于染色体中间部位，提示核仁组织者区域位于该染色体的居间位置。

芋蝗属：芋蝗（表1、2；图版F），通过对该种减数分裂粗线期和双线期的观察表明，NOR位于第9号染色体双价体的居间部位。

伪稻蝗属：赤胫伪稻蝗（表1、2，图版G），NOR定位于第8号染色体居间部位，在减数分裂双线期，该染色体呈现为一末端交叉的双价体，而核仁所附着的NOR区域位于该双价体中部。

二、秃蝗亚科 卵翅蝗属：小卵翅蝗（表1、2；图版H），该种NOR定位于第2号染色体近着丝粒区域，在减数分裂粗线期，核仁均附着于第2号染色体的接近着丝粒端，在双线期时，该染色体具4个交叉点，核仁附着部位明显位于近着丝粒端。

舟形蝗属：绿胫舟形蝗（表1、2；图版Ⅰ），其NOR定位于第7号染色体近着丝粒位置。与上述小卵翅蝗相比，其核仁附着于染色体上的形状很有些共同之处，但从双价体大小顺序来看，绿胫舟形蝗中NOR定位的双价体远较上种为小，据大量观察，

是位于第 7 号染色体上。

蹦蝗属：霍山蹦蝗（表 1、2，图版 J），NOR 位于第 7 号染色体居间部位。在减数分裂双线期时，该双价体呈环形，表明有两处交叉，而 NOR 位置在该双价体居间处。

表 1　标本种类，采集时间，地点及研究个体数

Tab. 1 The species, collected date, locality and individuals

名称			采集时间	采集地点	个体数
稻蝗亚科 Oxyinae	稻蝗属 *Oxya*	小稻蝗 *O. hyla intricata*	90.8	云南勐腊	9
		黄股稻蝗 *O. flavefemura*	89.8	云南勐腊	7
		山稻蝗 *O. agavisa*	90 9	四川宜宾	25
		无齿稻蝗 *O. adentata*	86.8	甘肃张掖	22
		上海稻蝗 *O. shanghaiensis*	90.9	陕西西安	30
	芋蝗属 *Gesonula*	芋蝗 *G. punctif rons*	85.8	广西南宁	6
	伪稻蝗属 *Pseudoxya*	赤胫伪稻蝗 *P. diminuta*	90.8	云南勐腊	17
秃蝗亚科 Podisminae	舟形蝗属 *Lemba*	绿胫舟形蝗 *L. viriditibia*	90.8	云南东川	10
	卵翅蝗属 *Caryanda*	小卵翅蝗 *C. elegans*	90.8	云南勐腊	18
	瑗秃蝗属 *Anapodisma*	玛瑗秃蝗 *A. miramae*	90.8	吉林长白山	1
	蹦蝗属 *Sinopodisma*	霍山蹦蝗 *S. houshana*	90.10	陕西宁陕	15
	小蹦蝗属 *Pedopodisma*	峨眉小蹦蝗 *P. emiensis*	90.7	四川青城山	8
	玛蝗属 *Miramella*	玛蝗 *M. solitaria*	90.3	吉林敦化	7
裸蝗亚科 Conophyminae	无翅蝗属 *Zubovskia*	小无翅蝗 *Z. parvula*	90.8	吉林长白山	12

小蹦蝗属：峨眉小蹦蝗（表 1、2；图版 K），该种 NOR 位于第 8 号染色体近端部区域。

瑗秃蝗属：玛瑗秃蝗（表 1、2；图版 L），NOR 定位于第 4 号染色体近着丝粒

处。双线期时，该双价体呈环形，而核仁附着部位接近着丝粒处。

玛蝗属：玛蝗（表1、2，图版M），其NOR定位于第2号染色体近着丝粒部位。该染色体粗大，具多处交叉，而核仁附着部位总是位于其上的近着丝粒端。

三、裸蝗亚科 无翅蝗属：小无翅蝗（表1、2；图版N），通过减数分裂粗线期和双线期的观察，NOR定位于X染色体的端部区域。

表2 斑腿蝗科10属NOR定位比较表

Tab. 2 The comparison of NOR localization in ten genera of Catantopidae

名称			染色体数目	NOR定位分布		
				近着丝粒区	居间区	末端区
稃蝗亚科	稻蝗属	小稻蝗	23	8	10	
		黄股稻蝗	23	8	10	
		山稻蝗	23	8	10	
		无齿稻蝗	23	8	10	
		上海稻蝗	23	8	10	
	芋蝗属	芋蝗	23		9	
	伪稻蝗属	赤胫伪稻蝗	23		8	
秃蝗亚科	卵翅蝗属	小卵翅蝗	23	2		
	舟形蝗属	绿胫舟形蝗	23	7		
	蹦蝗属	霍山蹦蝗	21		7	
	小蹦蝗属	峨眉小蹦蝗	21			8
	瑷秃蝗属	玛瑷秃蝗	21	4		
	玛蝗属	玛蝗	21	2		
裸蝗亚科	无翅蝗属	小无翅蝗	21			x

讨 论

一、核仁组织者分布在属级鉴定中的意义 1. 本工作所研究的赤胫伪稻蝗 *Pseudoxya diminuta* (Walk) 的归属问题自建立以来有过多次变动。1910年曾有学者将其归入稻蝗属中。Hollis (1975) 根据其相似于卵翅蝗的若干特点将其归入卵翅蝗属中，印象初 (1987) 将其独立为一属。赤胫伪稻蝗在前胸背板形态、翅及发音器、腹部末节尾片有无及阳茎基背片形状等分类性状上确实显示出与稻蝗属和卵翅蝗属亦此亦彼的特点。从C带分析（马恩波等，文章待发）中可以看出，该种除具本身特点外，还保留有上述两属的一些原始C带特征。本工作从NOR定位角度分析确定该种NOR位于第8号染色体的居间区，与稻蝗属和卵翅蝗属均不一致。本工作为赤胫伪稻蝗独立为一属 *Pseudoxya* Yin *et* Lin 提供了一个细胞学方面的证据。

2. 舟形蝗属 *Lemba* Huang 与卵翅蝗属 *Caryanda* Stål 为近缘属。两者区分之处仅在于雄性下生殖板延伸与否，前翅形状颜色以及外生殖器等一些特征方面。本文对上述两属的NOR定位研究可见卵翅蝗属位于第2号染色体的近着丝粒区，而绿胫舟形蝗

则位于第 7 号染色体的近着丝粒区，从 NOR 定位染色体的不同可以看出该两属在遗传学上已有较大的分歧。由上述两例可以看出，NOR 定位研究对于确定属级分类关系具有一定意义。

二、种间水平 NOR 定位的比较　本工作较全面地分析了稻蝗属内的 5 个种，通过大量制片，观察分析，表明其 NOR 定位均在第 8 号染色体近着丝粒区以及第 10 号染色体的居间区。上述特点在每种（包括各不同种群）中都相当恒定。而在 C 带研究（马恩波等 1989）中，可以看出，稻蝗属各种都具有各自独特的带纹结构。

三、NOR 在细胞分类学研究中的意义探讨　核仁组织者区域（NOR）是 18s+28s r DNA 分布区，其转录酸性蛋白，而酸性蛋白又与染料中 Ag 离子特异性结合而着色，核仁组织者区域位于哪对染色体上，其活性大小如何，都是物种在漫长的进化历程中形成的。有学者在对蝗虫类 NOR 研究基础上提出下列看法：NOR 定位及活性在同属不同种间进行比较时，往往显示出更多的种间相似性，因此，使该项技术成为揭示一个大分类单元（高级阶元）中种系发生关系的一个有用指标（Camacho 等，1987）。本文工作结果与上述观点基本吻合。由此可见，NOR 定位与属级进化速率相平行，当确定某一特定物种该隶何属时，NOR 定位分布将是一个有用的标志。

图　版　说　明

A. 小稻蝗 *Oxya hyla intricata* (Stål)　B. 黄股稻蝗 *O. flavefemura*　C. 山稻蝗 *O. agavisa* Tsai　D. 无齿稻蝗 *O. adentata* Willemse　E. 上海稻蝗 *O. shanghaiensis* Willemse　A—E ↑ 示第 8 号染色体；△示第 10 号染色体。F. 芋蝗 *Gesonula punctifrons* (Stål) 箭头示第 9 号染色体；G. 赤胫伪稻蝗 *Pesudoxya diminuta* (Walk) 箭头示第 8 号染色体；H. 小卵翅蝗 *Caryanda elegans* Bol. I. 箭头示第 2 号染色体；I. 绿胫舟形蝗 *Lemba viriditibia* 箭头示第 7 号染色体；J. 霍山蹦蝗 *Sinopodisma houshana* Huang 箭头示第 7 号染色体；K. 峨眉小蹦蝗 *Pedopodisma emiensis* (Yin) 箭头示第 8 号染色体；L. 玛瑷秃蝗 *Anapodisma miramae* Dov.-Zap. 箭头示第 4 号染色体；M. 玛蝗 *Miramella solitaria* (Ikonn.) 箭头示第 2 号染色体；N. 小无翅蝗 *Zubovskia parvula* (Ikonn.) 箭头示 X 染色体。

参　考　文　献

马恩波，郑哲民．1989．五种稻蝗染色体核型和C带带型的比较．昆虫学报，**32** (4)：399—405.

施立明．1980．银染方法及其在细胞遗传学中的应用．遗传，**2** (4)：29—32.

施立明．1984．染色体分带技术的回顾与展望．动物学研究（增刊），**5** (1)：1—12.

Barton, N. H. and Hewitt, G. M. 1989. Adaptation, Speciation and Hybrid Zones *Nature* **341** (6242): 497–503.

Cabrero, J. *et al.* 1986. Cytogenetic studies in Gomphocerine grasshoppers Ⅱ. Chromosomal location of active nucleolar organizing regions *Can. J. Genet. Cytol.* **28**: 540–544.

Camacho, J. P. *et al.* 1987. Cytological markers for analysing evolutionary relationships between related species of Orthopteroids *In Evol. Biol. Orthopt. Insects.* 148–156.

Fox, D. P. *et al.* 1985. N–bands and nucleolus expression in *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria Heredity* **54**: 333–341.

Garcia, C. *et al.* 1982. Cytogenetic studies on *Chorthippus jucundus* (Fisch) (Orth.) Ⅱ. Heterochromatin variation and NOR localization *Cytobios* **34**: 7–14.

Gosalvez, J. *et al.* 1981. The chromosome system in three species of the genus *Arcyptera* (Orth. Acrid.) I. Heterochromatin, DNA content and NOR active *Acrida* **10** (4): 191–204.

Hewitt, G. M. 1979. Animal Cytogenetics 3. Insecta 1) . Orthoptera , Grasshoppers and Crickets *Gebruder Borntraeger* 1–170.

Hewitt. G. M. *et al* . 1988. Differences in the nucleolar organisers on sex chromosome and Haldane's Rule in a hybrid zone Kew Chromosome Conference Ⅲ. *HMSO* 109–119.

Jose Fernandez–P. *et al.* 1982. Differential staining of the X–chromosome during meiosis of Orth. by a silver impregnation procedure *Chromosoma* (Berl) **85** : 707–711.

Julio, S. 1982. Development of silver stained structures during spermatogenesis of *Schistocerca gregaria* (Orth. Acrid.) *Caryologia* 35 (2): 261–267.

THE NOR LOCALIZATION OF 10 GENERA OF CATANTOPIDAE AND ITS SIGNIFICANCE IN CYTOTAXONOMY

Ma Enbo Guo Yaping

(Department of Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Zheng Zhemin

(Institute of Zoology, Shaanxi Normal University, Xian 710062)

In this present paper, the NOR localization in the representative species of 10 genera belonging to 3 subfamilies have been studied by Ag–staining method. The results show that the NOR localization are different among these genera, and same location in the same genus. For example, in *Oxya*, the five species studied, all of them show the NOR location on L2 and M8 chromosomes, and genus *Gesonula*, the location is S9 chromosome; Genus *Caryanda* the NOR localises on L2 chromosome, etc. From the results above, we considered that the NOR localization is paralleli with the evolutionary rate of genus category in Catantopidae. When make sure some species belonging to a certain genus, the NOR localization should be a useful cytological mark.

Key words: Catantopidae, Cytotaxonomy, NOR localization, Ag–banding

马恩波等：斑腿蝗科10属NORs定位及细胞分类学意义

Ma Enbo *et al.*: The NOR localization of 10 genera of Catantopidae and its significance in cytotaxonomy

(图版说明见正文)